

明 細 書

涙液異常の治療のための眼科用組成物

5 技術分野

本発明は、眼の乾燥抑制効果を有する眼科用組成物、ひいては、涙液異常の治療のための眼科用組成物に関する。さらに詳しくは、3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩類を有効成分として含有し、そして、眼の乾燥抑制のために用いられることを特徴とする眼科用組成物、ひいては、涙液異常の治療のために用いられることを特徴とする眼科用組成物に関する。

従来の技術

涙液は、眼球の最外層を覆う厚さ約7 μm の薄い液層である。涙液は、表層から、油層・水層・ムチン層の3層構造を有しており、これらの各層が互いに影響し、涙液の構造を整えている。また、これらの涙液の各層には、例えば、ラクトフェリン、リゾチーム、IgA、IgGおよびアルブミン等のタンパク質、ワックス、コレステロール、糖質、ムチン等の種々の成分が含有されている。これらの成分を含有する涙液の機能としては、眼表面の環境を湿潤に保つとともに、外界から侵入する病原体等からの感染防御、多数の生理活性物質の供給および無血管組織である角膜への酸素供給等が挙げられる。

このように、涙液は様々な機能を有しているが、例えば、涙液の分泌に異常が起こり分泌量が減少した場合や、涙液の質に異常が起こり蒸発量が増加した場合等には、涙液の機能が正常に作用しなくなることがある。こうした涙液異常が生じた場合、自覚症状として眼の乾燥を伴うことが多く、近年では、エアコンの普及による室内の乾燥やパソコン等のVDT作業の増大に伴い、眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の涙液異常による不快症状等を訴える患者が増加している。また、このような涙液の異常に伴い、さらに角結膜上皮に障害が発生したものをドライアイと定義しているが、広義には、涙液の分泌異常

および質の異常の症状を呈し、角結膜上皮に障害が見られない場合も、ドライアイ疑い例であるとされている。それゆえ、涙液の分泌量の増加や、涙液の質の改善による蒸発量の抑制等、涙液異常の治療効果を有する眼科用組成物を使用することによって、眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の涙液異常による不快症状等を改善することができ、さらには、涙液異常により発症する疾患、例えば、眼の乾燥に関連する障害であるドライアイおよびドライアイ疑い例の発症を抑制することができると考えられる。なお、ドライアイおよびドライアイ疑い例としては、涙液減少症、欠涙症、眼球乾燥症、シェーグレン症候群、スティーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、眼瞼縁炎、閉眼不全および知覚神経麻痺等の疾患や、アレルギー性結膜炎、ウイルス性結膜炎および白内障手術等に関連したドライアイ、涙液評価検査の1つである涙液層破壊時間（以下、BUTと略す）のみが短縮しているBUT短縮型ドライアイ、さらには、近年、増加してきたVDT作業により引き起こされる症状等が挙げられる。

現在、眼の乾燥等の不快症状を緩和する方法、さらにはドライアイおよびドライアイ疑い例を緩和あるいは治療する方法としては、人工涙液を点眼することにより不足した涙液を外部から補充する方法や、涙点を閉鎖する方法等が知られている。また、涙液の分泌異常および質の異常により生じた角結膜上皮障害を治療するために、ヒアルロン酸ナトリウムを含有する点眼薬を使用する方法等も知られている。しかしながら、いずれの方法もその効果が一時的なものであり、さらには、涙液異常により生じた角結膜の障害を治療するためのものであり、ドライアイおよびドライアイ疑い例の発症を抑制できるものではなく対症療法に過ぎない等の理由により、満足のいくものではなかった。それゆえ、このような対症療法ではなく、眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の涙液異常による不快症状等を改善するために、さらには、ドライアイおよびドライアイ疑い例の発症を抑制するために、例えば、眼の乾燥抑制効果を有する眼科用組成物、ひいては、涙液異常の治療のための眼科用組成物が必要とされていた。

これまで、角結膜表面の乾燥を防止する目的で、グルコマンナンを有効成分とする点眼液（例えば、特許文献1参照）や、トリメチルグリシンを含有してな

る眼科用液剤が開示されている（例えば、特許文献 2 参照）。また、 β_2 アドレナリン受容体作動薬を有効成分として含有する組成物が、乾性眼障害や角結膜障害の治療剤あるいは予防剤として利用できることも開示されている（例えば、特許文献 3 参照）。

5 また、ドライアイを治療するための製剤として、BUT 等の涙液評価検査において、優れた改善効果を有するマクロライド化合物を有効成分として含有するドライアイ処置剤（例えば、特許文献 4 参照）や、脂肪酸誘導体を有効成分として含有するドライアイを含む涙液分泌障害の処置のための組成物（例えば、特許文献 5 参照）が開示されている。

10 一方、本発明において有効成分として用いられる 3-ヒドロキシ酪酸について、出願人はこれまで、3-ヒドロキシ酪酸を有効成分とする眼に適用する治療剤として、角膜上皮損傷治療剤（例えば、特許文献 6 参照）および角膜混濁抑制剤（例えば、特許文献 7 参照）を提案している。しかしながら、3-ヒドロキシ酪酸を含有する眼科用組成物について、眼の乾燥抑制のために用いられること、
15 ひいては、涙液異常の治療のために用いられることについての報告はない。

【特許文献 1】 特開平 6-345653 号公報

【特許文献 2】 特開 2000-281563 号公報

【特許文献 3】 再公表 WO 01/041806 号公報

【特許文献 4】 特表 2002-543132 号公報

20 【特許文献 5】 特表 2003-504397 号公報

【特許文献 6】 特開平 10-265378 号公報

【特許文献 7】 特開 2001-89366 号公報

発明の開示

25 本発明の目的は、眼の乾燥抑制効果を有する眼科用組成物、ひいては、涙液異常の治療のための眼科用組成物を提供することにある。

本発明の他の目的および利点は、以下の説明から明らかになる。

本発明によれば、本発明の上記目的および利点は、3-ヒドロキシ酪酸およ

び／またはその塩類を有効成分として含有し、そして、眼の乾燥抑制のために用いられることを特徴とする眼科用組成物、ひいては、涙液異常の治療のために用いられることを特徴とする眼科用組成物によって達成される。

5 図面の簡単な説明

- 図1は、Normal環境およびDry環境におけるラットの単位面積あたりのドライスポット面積、Dry環境のラットにD-3-ヒドロキシ酪酸ナトリウム（以下、HBA・Naと略す）およびリン酸緩衝ナトリウム溶液（以下、PBSと略す）点眼を行った場合の単位面積あたりのドライスポット面積を示す。
- 10 図2は、Normal環境およびDry環境のラットのBUT、Dry環境のラットにHBA・NaおよびPBS点眼を行った場合のBUTを示す。
- 図3は、Normal環境のラットの角膜SEM観察写真を示す。
- 図4は、図3の拡大写真を示す。
- 図5は、Dry環境のラットの角膜SEM観察写真を示す。
- 15 図6は、図5の拡大写真を示す。
- 図7は、Dry環境のラットに、HBA・Na点眼を行った場合の角膜のSEM観察写真を示す。
- 図8は、図7の拡大写真を示す。
- 図9は、Dry環境のラットに、PBS点眼を行った場合の角膜のSEM観察写真を示す。
- 20 図10は、Normal環境およびDry環境におけるラット角膜の暗細胞の割合、Dry環境のラットにHBA・NaおよびPBS点眼を行った場合のラット角膜の暗細胞の割合を示す。

25 発明の好ましい実施の形態

本発明の眼科用組成物は、有効成分として3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩を含有する。3-ヒドロキシ酪酸は、その化学構造式のC3位の立体配置につき、D-体、D, L-ラセミ体およびL-体があることが知られており、本

発明においては、いずれの構造のものでも使用することができる。また、3-ヒドロキシ酪酸の塩類は、好ましくは、ナトリウム塩、カリウム塩、L-リジン塩、L-ヒスチジン塩およびL-アルギニン塩からなる群より選ばれる少なくとも1種が適宜選択される。これら3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩類は、適宜単独であるいは2種類以上併用することができる。本発明の眼科用組成物における3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩類の濃度は、患者の年齢や症状の程度、またはその用途に応じて適宜決定されるが、0.8～800mmol/Lの範囲であるのが好ましく、より好ましくは4～400mmol/L、さらに好ましくは8～240mmol/L、特に好ましくは10～150mmol/Lの範囲にある。

本発明の眼科用組成物は、眼の乾燥抑制のために用いられる。本発明において、眼の乾燥抑制とは、涙液異常を治療することを意味する。さらに、本発明において、涙液異常とは、涙液の分泌に異常が起こり、分泌量が減少した場合や、涙液の質に異常が起こり、蒸発量の増加等が起こった場合等を意味し、特に、角結膜に障害を伴わない上記涙液異常の場合を意味する。これらの異常に伴い、涙液の安定性および眼表面における涙液の保持に問題が生じることがあり、例えば、ドライスポットの出現やBUTの短縮、角結膜上皮細胞の微絨毛／微ひだの異常等の現象を示す。これらの現象は、当然のように眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の涙液異常による不快症状等を引き起こし、それにより眼の乾燥に関連する障害であるドライアイおよびドライアイ疑い例が発症することとなる。従って、本発明でいう眼の乾燥抑制、ひいては、涙液異常の治療とは、前述した涙液異常を治療し、眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の涙液異常による不快症状等を改善するもの、さらには、涙液異常により発症する疾患の発症抑制を指し、特に、角結膜に障害を伴わず且つ涙液異常により発症する疾患の発症抑制を指す。また、本発明では、このような涙液異常の治療は、涙液層の安定性改善および／または角結膜上での涙液の保持性向上により達成されるものを意味している。なお、ドライアイおよびドライアイ疑い例としては、涙液減少症、欠涙症、眼球乾燥症、シェーグレン症候群、ステイ

ープンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、眼瞼縁炎、閉眼不全および知覚神経麻痺等の疾患や、アレルギー性結膜炎、ウイルス性結膜炎および白内障手術等に関連したドライアイ、涙液評価検査の1つであるBUTのみが短縮しているBUT短縮型ドライアイ、さらには、近年、増加してきたVDT作業により引き起こされる症状等が挙げられる。以下に、涙液層の安定性改善および角結膜上での涙液の保持性向上について説明する。

- 本発明において、涙液層の安定性改善とは、涙液を構成する油層、水層およびムチン層の少なくともいずれか1つの層の安定性が改善することを意味する。さらに、本発明における涙液層の安定性改善とは、例えば、油層、水層およびムチン層の少なくともいずれか1つの層の分泌量が増加することにより達成されるもの等を指し、例えば、ラクトフェリン、リゾチーム、IgA、IgGおよびアルブミン等のタンパク質、ワックス、コレステロール、糖質、ムチン等の涙液に含まれる成分のうち少なくとも1つの分泌量が増加することにも含まれるが、その他の要因により達成されるものも含まれる。
- 涙液を構成する各層は、それぞれが互いに影響し、涙液の安定性に重要な機能を有している。例えば、油層は水層全体を覆うことにより涙液の蒸発を抑制する役割や、眼瞼縁からの涙液の流出を阻止するバリアード機能等を有している。水層は、涙液の厚さの大部分を占め、眼球の潤滑性を維持する役割等を担っている。ムチン層は、疎水性である角結膜上皮表面を覆うことにより、角結膜上皮を親水性に変えて、涙液が眼球表面から流失しないようにする役割等を担っている。本発明の眼科用組成物を使用することにより、例えば、油層、水層およびムチン層の少なくともいずれか1つの層の分泌量が増加し、上記に挙げた涙液各層の機能のうち、例えば、涙液の蒸発抑制効果および涙液の眼球表面からの流失抑制効果等を得ることができる。このような効果としては、具体的には、ドライスポット出現抑制効果およびBUT延長効果等が挙げられる。以上より、本発明の眼科用組成物を用いることにより、涙液層の安定性が改善し、眼の乾燥抑制、ひいては、涙液異常の治療を行うことができる。

また、本発明において、角結膜上での涙液の保持性向上とは、本発明の眼科用

- 組成物を用いることにより、角結膜上皮細胞が正常な状態に維持および／または回復し、角結膜上での涙液の保持性が向上することを意味する。さらに詳しくは、本発明の眼科用組成物を用いることにより、角結膜上皮細胞の微絨毛／微ひだを正常な状態に維持および／または回復することができる。微絨毛／微ひだは、角
- 5 結膜上皮細胞表面に多数突起状で存在しており、涙液層のムチン層の付着を良くし、角結膜上で涙液を保持する役割を担っている。しかしながら、細胞活性が衰え、または、脱落を前にした角結膜上皮細胞では、微絨毛／微ひだが短くなっており、涙液を保持する効果が減少していることが知られている。また、角結膜の乾燥や防腐剤等の影響により、該微絨毛／微ひだの突起状構造が不明瞭になるこ
- 10 とも知られている。本発明の眼科用組成物は、このような微絨毛／微ひだを正常な状態に維持および／または回復することができ、それにより、角結膜上での涙液の保持性を向上させることができる。それゆえ、本発明の眼科用組成物を用いることにより、角結膜上での涙液の保持性が向上し、眼の乾燥抑制、ひいては、涙液異常の治療を行うことができる。
- 15 本発明の眼科用組成物は、上述したように、涙液層の安定性改善効果および／または角結膜上での涙液の保持性向上効果を有しているため、該組成物を用いることにより、涙液の分泌異常および涙液の質的異常等の涙液異常、特に、角結膜に障害を伴わない涙液異常を治療することができる。それゆえ、該組成物を使用することにより、眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の
- 20 涙液異常による不快症状等を改善することができる。さらには、涙液異常により発症する疾患、例えば、眼の乾燥に関連する障害であるドライアイおよびドライアイ疑い例の発症を抑制すること、特に、角結膜に障害を伴わず且つ涙液異常により発症する疾患の発症を抑制することができる。なお、ドライアイおよびドライアイ疑い例としては、涙液減少症、欠涙症、眼球乾燥症、シェーグレン症候
- 25 群、スティーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、眼瞼縁炎、閉眼不全および知覚神経麻痺等の疾患や、アレルギー性結膜炎、ウイルス性結膜炎および白内障手術等に関連したドライアイ、涙液評価検査の1つであるBUTのみが短縮しているBUT短縮型ドライアイ、さらには、近年、増加してきたVDT作業によ

り引き起こされる症状等が挙げられる。

- また、本発明の眼科用組成物は、眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の不快症状等を有する患者に使用するのが好ましい。さらには、本発明の眼科用組成物は、涙液の分泌異常および涙液の質的異常等の涙液異常を有
- 5 する患者に使用するのが好ましく、角結膜に障害を伴わない患者の涙液異常の治療のために使用するのが好ましい。さらには、涙液異常により発症する疾患の発症抑制のために使用するのが好ましく、なかでも、角結膜に障害を伴わず且つ涙液異常により発症する疾患の発症抑制のために使用するのがより好ましい。

- 本発明において眼科用組成物とは、眼の乾燥抑制のために用いられる医薬組成
- 10 物を意味する。それゆえ、その剤型としては、非経口投与製剤である点眼剤、洗眼剤および眼軟膏剤等から選ばれるいずれかの剤型が好ましく、特に点眼剤とするのが好ましい。なお、それ以外にも、眼局所の疾患の治療や予防を目的として投与されるものであれば、例えば、経口投与製剤のような眼局所に直接投与しない製剤であっても特に差し支えない。

- 15 本発明の眼科用組成物は、有効成分として3-ヒドロキシ酪酸を含有していればよく、3-ヒドロキシ酪酸による眼の乾燥抑制、ひいては、涙液異常の治療を妨げない限り、さらに必要に応じて、各種成分を含有させることができる。そのような成分としては、例えば、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合には、点眼剤の安定性およびさし心地の良さを得ることを目的として、必要に応じて緩
- 20 衝剤、等張化剤、安定化剤、粘稠化剤、pH調整剤等の各種添加物およびその他の成分等を含有することができる。なお、これらの各種成分は単独であるいは2種類以上適宜含有することができ、多くの場合その方が好ましい。以下、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合について説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

- 25 上記緩衝剤は、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合に、該点眼剤のpHを安定化する目的等で含有することができる。該緩衝剤としては、一般に点眼剤として用いられているものであれば特に差し支えなく、例えば、ホウ酸、クエン酸、リン酸、酒石酸、グルコン酸、酢酸、炭酸およびそれらの塩等が挙げられる。

これらは単独で使用してもよく、2種類以上併用することもできる。これら緩衝剤の濃度としては、0.001～5w/v%であるのが好ましく、0.01～1w/v%であるのがより好ましい。

上記等張化剤は、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合に、該点眼剤の浸透圧を調整する目的等で含有することができる。該等張化剤としては、一般に点眼剤として用いられているものであれば特に差し支えなく、例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、塩化マグネシウムおよび硫酸マグネシウム等からなるアルカリまたはアルカリ土類金属塩の如き無機塩、およびグルコース、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、デキストランおよびグリセリン等の糖質等が挙げられる。これらは単独で使用してもよく、2種類以上併用することもできる。これら等張化剤の濃度としては、0.001～5w/v%であるのが好ましく、0.01～3w/v%であるのがより好ましい。

上記安定化剤は、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合に、該点眼剤の有効成分を安定化する目的等で含有することができる。該安定化剤としては、一般に点眼剤として用いられているものであれば特に差し支えなく、例えば、エデト酸/塩、シクロデキストリン、亜硫酸塩、クエン酸/塩、およびジブチルヒドロキシトルエン等が挙げられる。これらは単独で使用してもよく、2種類以上併用することもできる。これら安定化剤の濃度としては、0.001～5w/v%であるのが好ましく、0.01～1w/v%であるのがより好ましい。

上記粘稠化剤は、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合に、該点眼剤の粘度を調整する目的等で含有することができる。該粘稠化剤としては、一般に点眼剤として用いられているものであれば特に差し支えなく、例えば、グリセリン、エチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールおよびポリビニルアルコールなどのポリオール類、トレハロース、シュクロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびシクロデキストリン等の糖質類、カルボキシビニルポリマー等が挙げられ、その他キサンタンガム、ローカーストビーンガム、ゲランガムおよびカラギーナン類等の多糖類、ヒアルロン酸/塩、ポビドンおよびヒマシ油等

も含有することができる。これらは単独で使用してもよく、2種類以上併用することもできる。これら粘稠化剤の濃度としては、0.001~10w/v%であるのが好ましく、0.01~5w/v%であるのがより好ましい。

上記pH調整剤は、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合に、該点眼剤のpHを調整する目的等で含有することができる。該pH調整剤としては、一般に点眼剤として用いられているものであれば特に差し支えなく、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、塩酸、クエン酸、ホウ酸、リン酸、酢酸、酒石酸およびそれらの塩等が挙げられる。これらは単独で使用してもよく、2種類以上併用することもできる。本発明の眼科用組成物は、これらpH調整剤を適量添加し、目的のpHに調整する。

上記その他の成分は、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合に、各成分に応じた効果を付与する目的等で含有することができる。その他の成分としては、一般に眼科用剤として用いられているものであれば特に差し支えなく、例えば、充血除去剤、消炎・収斂剤、抗ヒスタミン剤、局所麻酔剤、ビタミン類、アミノ酸類、サルファ剤、清涼化剤および縮瞳剤等が挙げられる。これらは単独で使用してもよく、2種類以上併用することもできる。なお、これらの成分を含有する際には、患者の年齢や症状等に応じて、本発明の有効成分である3-ヒドロキシ酪酸の眼の乾燥抑制、ひいては、涙液異常の治療に悪影響を及ぼさない成分・濃度であることを確認して使用するのが好ましい。

一方、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合には、該点眼剤に防腐効果を持たせる目的で防腐剤を含有することもできる。該防腐剤としては、一般に点眼剤として用いられているものであれば特に差し支えなく、例えば、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベンもしくはブチルパラベン等のパラベン類、グルコン酸クロルヘキシジン、クロロブタノール、フェニルエチルアルコール、ベンジルアルコール、デヒドロ酢酸ナトリウム、ソルビン酸/塩、第4級アンモニウム性陽イオン界面活性剤および塩酸クロルヘキシジン等のカチオン系防腐剤等が挙げられる。第4級アンモニウム性陽イオン界面活性剤としては、例えば、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムおよび塩化セチルピリジニウム等が

挙げられる。これらは単独で使用してもよく、2種類以上併用することもできる。これら防腐剤の濃度としては、0.0001～0.1w/v%であるのが好ましく、0.001～0.05w/v%であるのがより好ましい。

しかしながら、一般に、防腐剤は涙液層を不安定化し、角結膜上皮細胞に悪影響を与えることが知られている。また、涙液の分泌異常および/または質的異常がある場合には、涙液の交換率に異常をきたしていることがあるため、防腐剤が結膜嚢内に長時間滞留する可能性がある。また、角結膜上皮に障害が発生している場合には、さらに障害が悪化する可能性がある。このようなことから、防腐剤を含有する点眼剤を点眼することにより、涙液および角結膜上皮にさらなる悪影響を及ぼす可能性があるため、防腐剤は含有しない方がより好ましい。防腐剤を含有しない場合には、本発明の点眼剤を、1回の使用で使い捨てるタイプの容器、いわゆる「ディスポ容器」に充填するのが好ましい。

また、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合には、各種配合成分を組み合わせた後、pHを調整することが好ましい。pHの範囲としては、点眼剤として許容される範囲であれば特に制限はなく、例えば、pH4～10とするのが好ましく、pH6～8.5がより好ましい。pH4未満の酸性およびpH10を超えるアルカリ性領域では眼刺激や眼障害を生じる可能性があるので好ましくない。

また、本発明の眼科用組成物を点眼剤とする場合、該組成物の浸透圧としては、点眼剤として許容される範囲であれば特に制限はなく、例えば、100～600mOsm. が好ましく、150～500mOsm. がより好ましい。

本発明の眼科用組成物は、一般に知られている方法に従って調製することができる。通常、上記各種配合成分等を精製水（必要に応じて滅菌精製水）に順次溶解して調製することができる。例えば、点眼剤とする場合であれば、まず、粘稠剤を含有する場合には粘稠剤を滅菌精製水に溶解し、次いで有効成分および各種配合成分を溶解し、必要な場合はpHを調整した後、ポリエチレンテレフタレート製等の容器等に無菌充填することにより得られる。

本発明の眼科用組成物は、眼科的に許容される範囲であれば投与量が特に制限されるものではない。例えば、上記の如き点眼剤の形態で用いる場合には、通常

1 回につき 1 ～ 3 滴を 1 日 1 回 ～ 2 0 回、特に 1 回 ～ 1 0 回投与することが好ましい。

実施例

- 5 以下、本発明を実施例および比較例により具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例 1

- 以下のように、低湿度環境下にてラットに向けて送風を行い、ラットドライアイモデルを作製した。作製したラットドライアイモデルを用い、本発明の有効成分である D-3-ヒドロキシ酪酸ナトリウム（以下 HBA・Na と略す）の涙液層の安定性改善効果を調べた。すなわち、ラット涙液層のドライスポット出現面積の観察および BUT 測定を行った。

(1) 使用動物

- 15 被験動物として、照明下 12 時間および暗室下 12 時間、室温 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $60 \pm 10\%$ の環境を維持した飼育室にて、4 日間馴化させた 8 週齢の雌性 SD ラットを用いた。

(2) ラットドライアイモデルの作製方法

- 20 馴化飼育後、ラットを室温 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $25 \pm 5\%$ に維持した低湿度環境下に搬入し、ラットに扇風機にて風速 $2 \sim 4 \text{ m/s}$ の送風を行った。この送風は、ラットが正面から風を受けるようにした状態で 8 時間、さらに、ラットが自由に動くことができる状態で 16 時間行った。これを連続して 5 日間行った。なお、本実施例では、このような環境を Dry 環境という。

(3) ラットドライアイモデルの評価

- 25 HBA・Na 点眼および PBS 点眼による涙液層の観察および BUT 測定を実施する前に、確認のために、Normal 環境（通常湿度、送風なし）および Dry 環境におけるラット涙液層のドライスポット面積の観察および BUT 測定を実施した。その結果、Dry 環境のラットは、Normal 環境のラットと比較

して、ドライスポット面積が有意に大きくなり、また、BUTが有意に小さくなることが分かった（図1および図2参照）。それゆえ、Dry環境とすることにより、ラットの涙液層は不安定化することが分かった。従って、本モデルは、涙液の異常をきたしたドライアイモデルであることが確認された。

5 (4) 試験薬の調製および点眼方法

本発明に係わる組成物として、HBA・Naをリン酸緩衝ナトリウム溶液（以下PBSと略す）に溶解し、40、80および120mmol/Lとした点眼液を調製した。また、比較液として、PBSのみの点眼液を用いた。点眼は、ラットの右眼に各濃度のHBA・Naを、左眼にPBSを点眼した。なお、各点眼液は、pH7.4、浸透圧280mOsm.となるように調製した。各種の点眼液は、ラットをDry環境に搬入し、ラットが正面から風を受けるように配置した直後に1回目の点眼を行い、その後2時間おきに、計4回行った。2日目以降についても、ラットが正面から風を受けるように配置した直後に1回目の点眼を行い、その後2時間おきに、計4回行った。これを5日間行った。

15 (5) 涙液層の観察および評価方法

5日目の最後の点眼から2時間後、ラットに塩酸キシラジン/塩酸ケタミン混合液を注射（2mL/kg）し、麻酔を施した。ラットを固定し、強制的に瞬目させた後開眼し、開眼直後から5分間開眼後のドライスポット面積をドライアイ観察装置「DR-1」（興和社製）を用いて観察し、観察像をビデオにて録画した。観察像は画像解析ソフトである「Scion Image（バージョン4.02β）」（Scion Corporation製）を用いて解析し、単位面積あたりのドライスポット面積[ドライスポット面積(pixel)/角膜の観察領域の面積(pixel)]を求めた。その面積を換算式（1pixel=0.0000195mm²）を用いて、角膜の単位面積あたりのドライスポット面積[ドライスポット面積(mm²)/角膜の観察領域の面積(mm²)]を算出し評価した。なお、ドライスポット面積は、開眼直後からの増減にて算出した。その結果を図1に示す。本実施例では、HBA・Na80および120mmol/Lの濃度について実施し、HBA・Naの各条件につき12匹12眼となるように

して評価した。

(6) 涙液層破壊時間 (以下、BUTと略す) の測定および評価方法

5 5日目の最後の点眼から2時間後、ラットに塩酸キシラジン/塩酸ケタミン混合液を注射 (2 mL/kg) し、麻酔を施した。ラットに1%フルオレセイン点眼を行い、数回、瞬目させた後、BUTを測定した。なお、ここでは、HBA・Na 40、80および120 mmol/Lの濃度について実施し、HBA・Naの各条件につき8匹8眼となるようにして評価した。結果を図2に示す。

図1の結果より、本発明の有効成分であるHBA・Naを80 mmol/L含有する点眼液を点眼したラットの涙液層においては、比較液であるPBSを点眼したラットの涙液層と比較して、ドライスポット面積が有意に小さいことが分かった ($p < 0.05$)。また、HBA・Naを120 mmol/L含有する点眼液を点眼した場合にも、PBSを点眼した場合と比較して、ドライスポット面積が小さくなる傾向が見られた。これは、Dry環境にて作製したラットでは、涙液層が不安定となり、PBS点眼を行っても、なお涙液層は安定化せず、瞬目後すぐに涙液が角結膜上から消失し、ドライスポットが出現することを意味している。一方、同条件で作製したラットに、本発明の有効成分であるHBA・Naを含有する点眼液を点眼した場合、ドライスポット面積が縮小し、涙液層の安定性が改善していることが確認された。これらの結果から、HBA・Naを含有する本発明の眼科用組成物は、涙液層の安定性を改善する効果を有していることが確認された。

また、図2の結果より、いずれの濃度のHBA・Naを点眼した場合でも、PBS点眼よりも有意にBUTが延長することが分かった。これは、Dry環境にて作製したラットでは、涙液層が不安定となりBUTが短縮するが、PBS点眼を行っても、なお涙液層の安定性が改善しないことを示している。一方、同条件で作製したラットに、HBA・Naを含有する点眼液を点眼した場合、BUTが延長し、涙液層の安定性が改善していることが確認された。これらの結果から、HBA・Naを含有する本発明の眼科用組成物は、涙液層の安定性を改善する効

果を有していることが確認された。

以上のことから、本発明の眼科用組成物は、涙液層の安定性改善効果を有しており、眼の乾燥抑制、ひいては、涙液異常の治療に有効であることが確認された。

5

実施例 2

実施例 1 に示すラットドライアイモデルを用いて、HBA・Na および PBS 点眼後のラット角膜上皮細胞の走査型電子顕微鏡（以下、SEM と略す）観察を行った。

10

（i）試料の作製

以下の手順に従い、試料を作製した。

- ①実施例 1 の（1）、（2）および（4）に記載の方法に従い、HBA・Na 80 mmol/L および PBS 溶液を 5 日間の点眼後、直ちにラットの角膜を取り出し、リン酸緩衝液（以下、PB と記す）で洗浄した。洗浄後、2.5% グルタルアルデヒド 0.1 mol/L PB 中に浸漬し、4℃ で 20 分、前固定した。
- ②0.1 mol/L PB で十分に洗浄し、1% 四酸化オスミウム 0.1 mol/L PB 中で、4℃ で 1 時間、後固定した。
- ③0.1 mol/L PB で十分に洗浄し、エタノール上昇系列で脱水した。
- ④エタノールを捨て、t-ブチルアルコールに置換した。
- ⑤試料を凍結乾燥した後、試料台へ接着させた。
- ⑥試料に白金をコーティングした。

20

（ii）SEM 観察

- HBA・Na 点眼および PBS 点眼後の SEM 観察を実施する前に、確認
- 25 のために、Normal 環境および Dry 環境のラット角膜を SEM（X-650、日立製作所社製）にて観察し写真を撮影した。Normal 環境の結果を図 3 および図 3 の拡大写真を図 4、Dry 環境の結果を図 5 および図 5 の拡大写真を図 6 に示す。また、上記（i）にて作製した試料を SEM 観察した結果として、

HBA・Na点眼群の結果を図7、図7の拡大写真を図8、PBS点眼群の結果を図9に示す。

(iii) 画像解析

上記の方法により観察した写真について、画像解析を行い、暗細胞数の割合を算出した。解析としては、撮影した写真の中から、一定の範囲をランダムに6箇所選択し、その範囲内にある細胞数および暗細胞数をカウントし、暗細胞数/全細胞数を算出した。その結果を図10に示す。

角膜上皮細胞のSEM観察においては、細胞の明るさの程度により、まだ細胞活性が盛んな細胞で、微絨毛/微ひだが長い様子で観察される明細胞、微絨毛/微ひだが短くなった中間細胞、微絨毛/微ひだの突起構造が消失し、脱落しかけている暗細胞、の3種類の多角形細胞が観察されることが知られている。

既に述べたとおり、微絨毛/微ひだが短くなった角結膜上皮細胞（暗細胞）では、涙液を保持する効果が減少していることが知られていることから、暗細胞の割合が多いということは、すなわち、涙液のムチン層の付着が悪く、角結膜上での涙液の保持性が低いことを意味し、逆に暗細胞の割合が少ないことは、涙液のムチン層の付着がよく、角結膜上での涙液の保持性が高いことを意味している。

図3および図5より、Dry環境のラットは、Normal環境のラットと比較して、暗細胞の割合が多いことが分かった。さらに、図4および図6より明らかなように、Dry環境のラットの角膜上皮細胞では、微絨毛/微ひだの突起構造が消失していることが確認された。これらの結果より、Dry環境にすることにより、ラット角膜上皮細胞の微絨毛/微ひだは消失することが分かった。これは、すなわち、涙液の角膜上での保持性が悪化することを示している。従って、本モデルは、涙液の異常をきたしたドライアイモデルであることが確認された。

また、図7および図9より、HBA・Na 80mmol/Lを点眼したラットの角膜上皮細胞は、PBSを点眼した角膜上皮細胞と比較して、暗細胞の割合が少なく、その割合は有意に少ないことが示され（図10参照）、さらに、図3に示すNormal環境のラット角膜上皮細胞の状態と同程度となることが分かっ

た。さらに、図6および図8を比較すると、Dry環境のラット角膜上皮細胞にHBA・Naを点眼することによって、該ラット角膜上皮細胞の微絨毛／微ひだが、正常な状態に維持および／または回復することが確認された。また、その程度としては、図4に示すNormal環境におけるラットの角膜上皮細胞の状態
5 と同程度であることが分かった。

これらの結果から、HBA・Naを含有する本発明の眼科用組成物は、角膜上皮細胞の微絨毛／微ひだを正常な状態に維持および／または回復する効果を有していることが確認された。従って、本発明の眼科用組成物は、涙液の保持性向上効果を有しており、眼の乾燥抑制、ひいては、涙液異常の治療に有効であること
10 が確認された。

以上の説明から明らかなように、本発明の眼科用組成物は、3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩類を有効成分として含有することにより、眼の乾燥を抑制することができ、ひいては、涙液異常の治療ができる。それゆえ、該組成物を
15 用いることにより、眼の乾燥をはじめ、異物感、眼の不快感および眼の疲れ等の涙液異常による不快症状等を改善することができる。さらには、本発明の眼科用組成物は、涙液異常により発症する疾患、例えば、眼の乾燥に関連する障害であるドライアイおよびドライアイ疑い例の発症を抑制すること、特には、角結膜に障害を伴わず且つ涙液異常により発症する疾患の発症を抑制することができる。

請求の範囲

1. 3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩類を有効成分として含有し、そして、涙液異常の治療のために用いられることを特徴とする眼科用組成物。
- 5
2. 涙液異常の治療が、涙液層の安定性改善および／または角結膜上での涙液の保持性向上により達成される請求項1記載の眼科用組成物。
3. 涙液層の安定性改善が、涙液の蒸発抑制により達成される請求項2記載の眼科用組成物。
- 10
4. 涙液層の安定性改善が、涙液層破壊時間の改善により達成される請求項2記載の眼科用組成物。
- 15
5. 涙液の保持性向上が、角結膜上皮細胞を正常な状態に維持および／または回復することにより達成される請求項2記載の眼科用組成物。
6. 涙液の保持性向上が、角結膜上皮細胞の微絨毛／微ひだを正常な状態に維持および／または回復することにより達成される請求項2記載の眼科用組成物。
- 20
7. 涙液異常が、角結膜に障害を伴わない涙液異常である、請求項1記載の眼科用組成物。
8. 涙液異常の治療が、涙液異常により発症する疾患の発症抑制である、請求項
- 25
- 1記載の眼科用組成物。
9. 涙液異常の治療が、角結膜に障害を伴わず且つ涙液異常により発症する疾患の発症抑制である、請求項8記載の眼科用組成物。

10. 3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩類の濃度が、 $0.8 \sim 800 \text{ mmol/L}$ である請求項1記載の眼科用組成物。

11. 3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩類の濃度が、 $10 \sim 150 \text{ mmol/L}$ である請求項1記載の眼科用組成物。

12. 涙液異常の患者に、涙液異常の治療に有効量で、請求項1～請求項11のいずれかに記載の眼科用組成物を点眼により投与することを特徴とする、涙液異常の治療方法。

10

13. 請求項1～請求項11のいずれかに記載の眼科用組成物の涙液異常の治療のための使用。

14. 請求項1～請求項11のいずれかに記載の眼科用組成物の、角結膜に障害を伴わない患者の涙液異常の治療および／または涙液異常により発症する疾患の発症抑制のための使用。

15

1 / 4

図 1

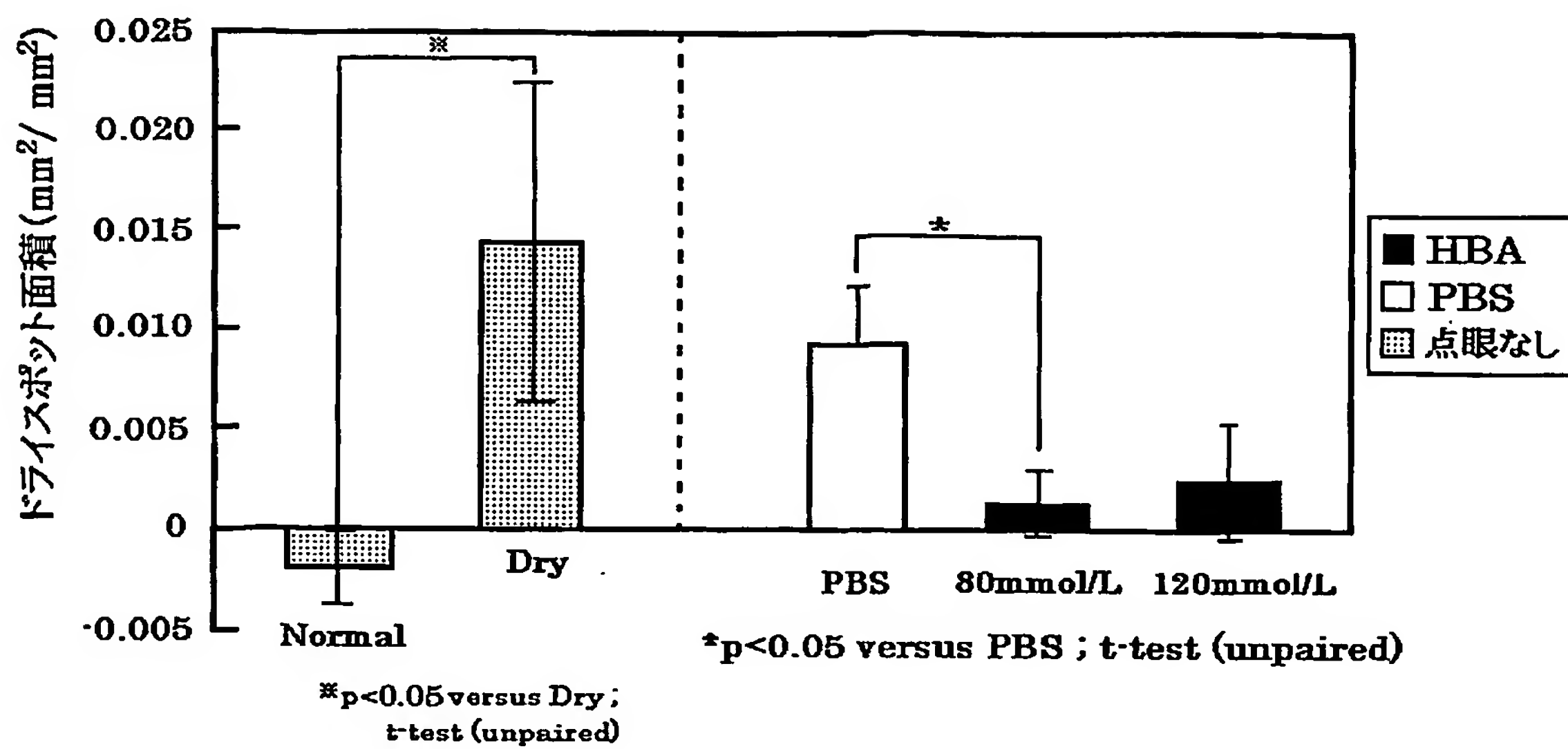
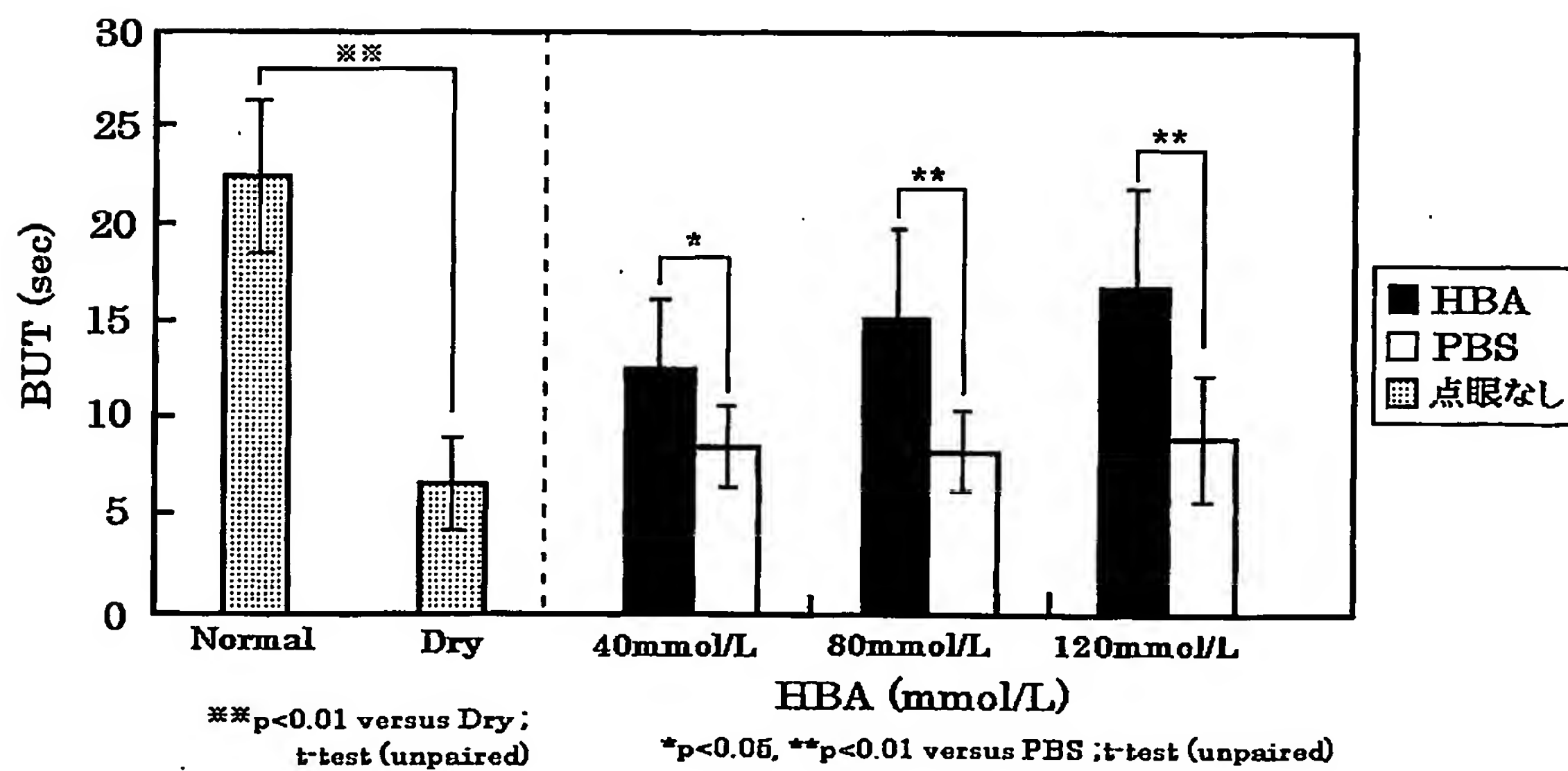


図 2



2 / 4

図 3

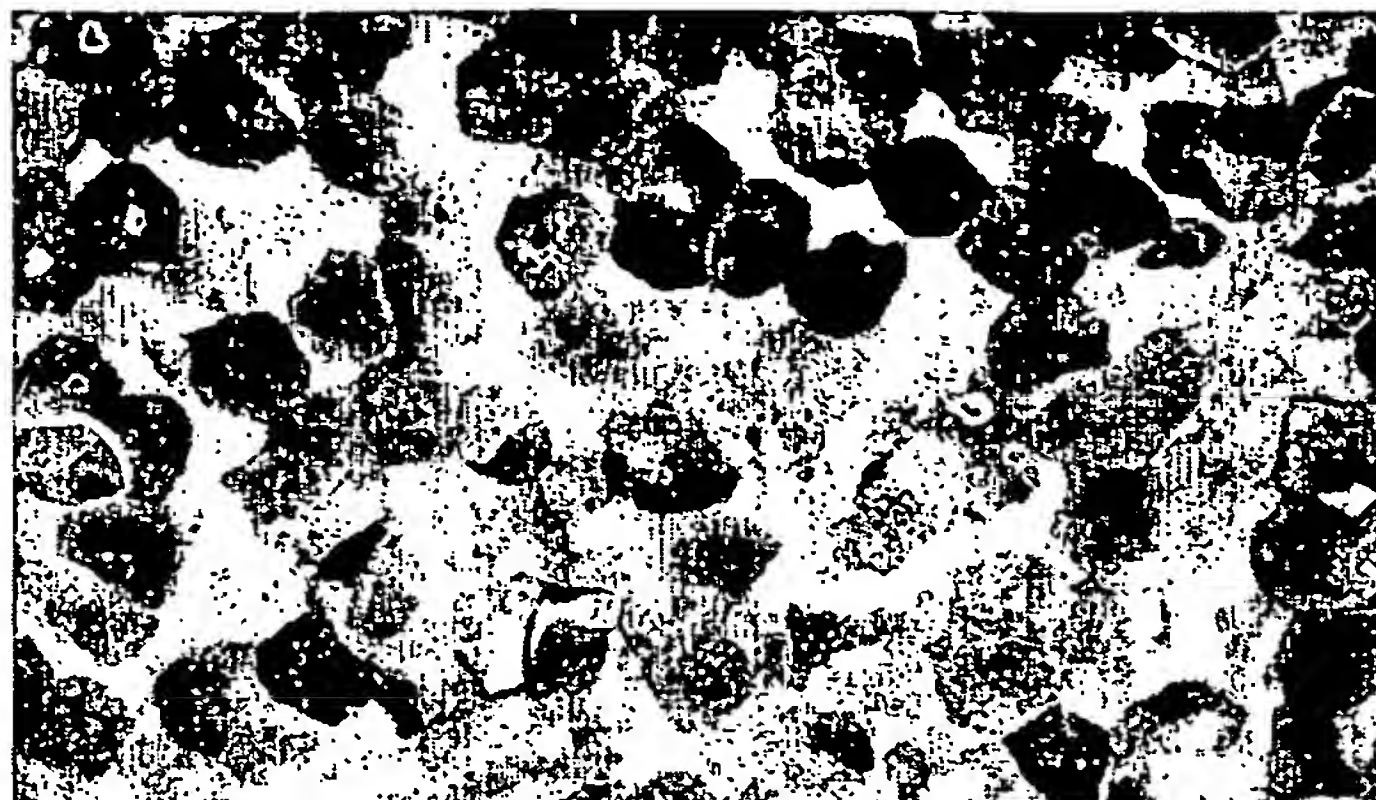
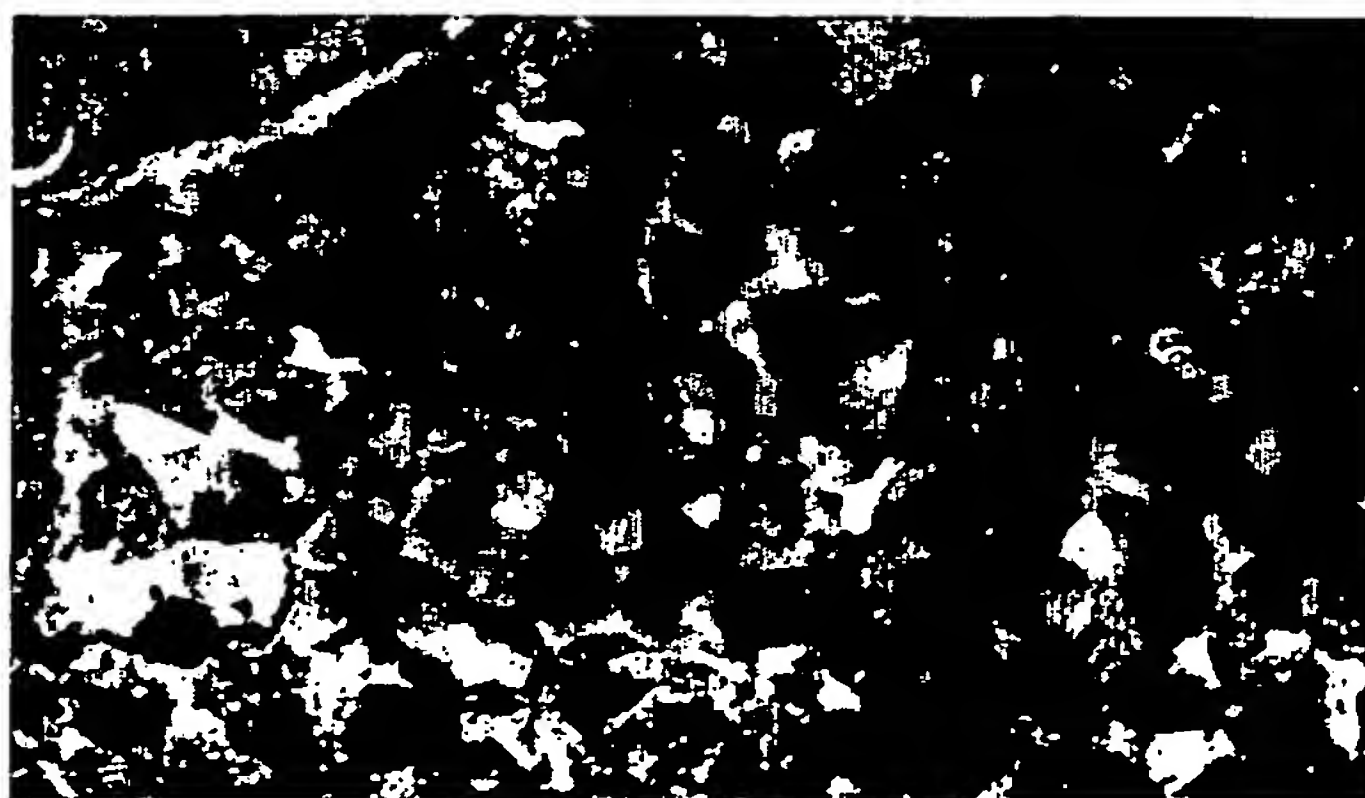


図 4



図 5



3 / 4

図 6

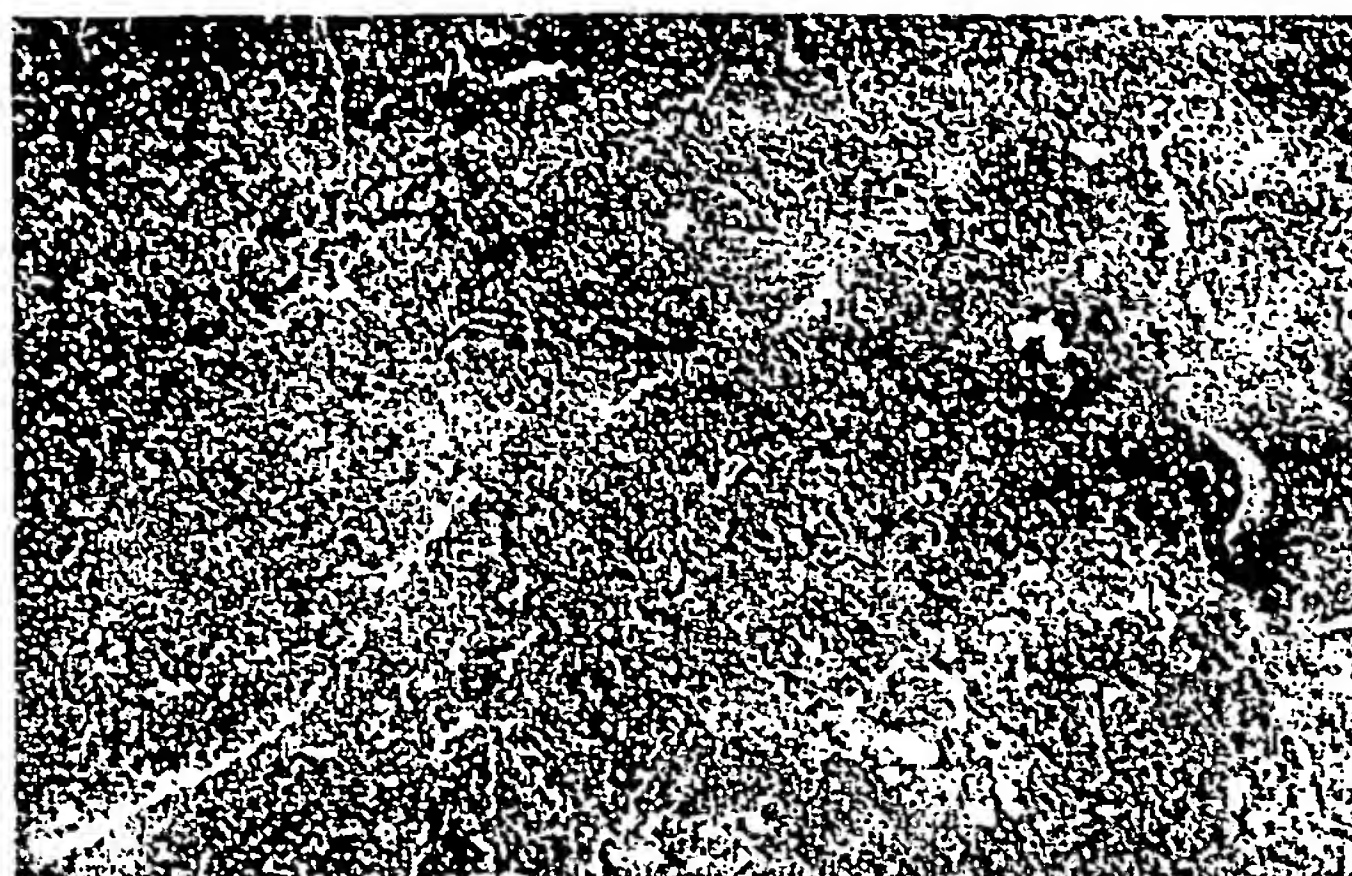
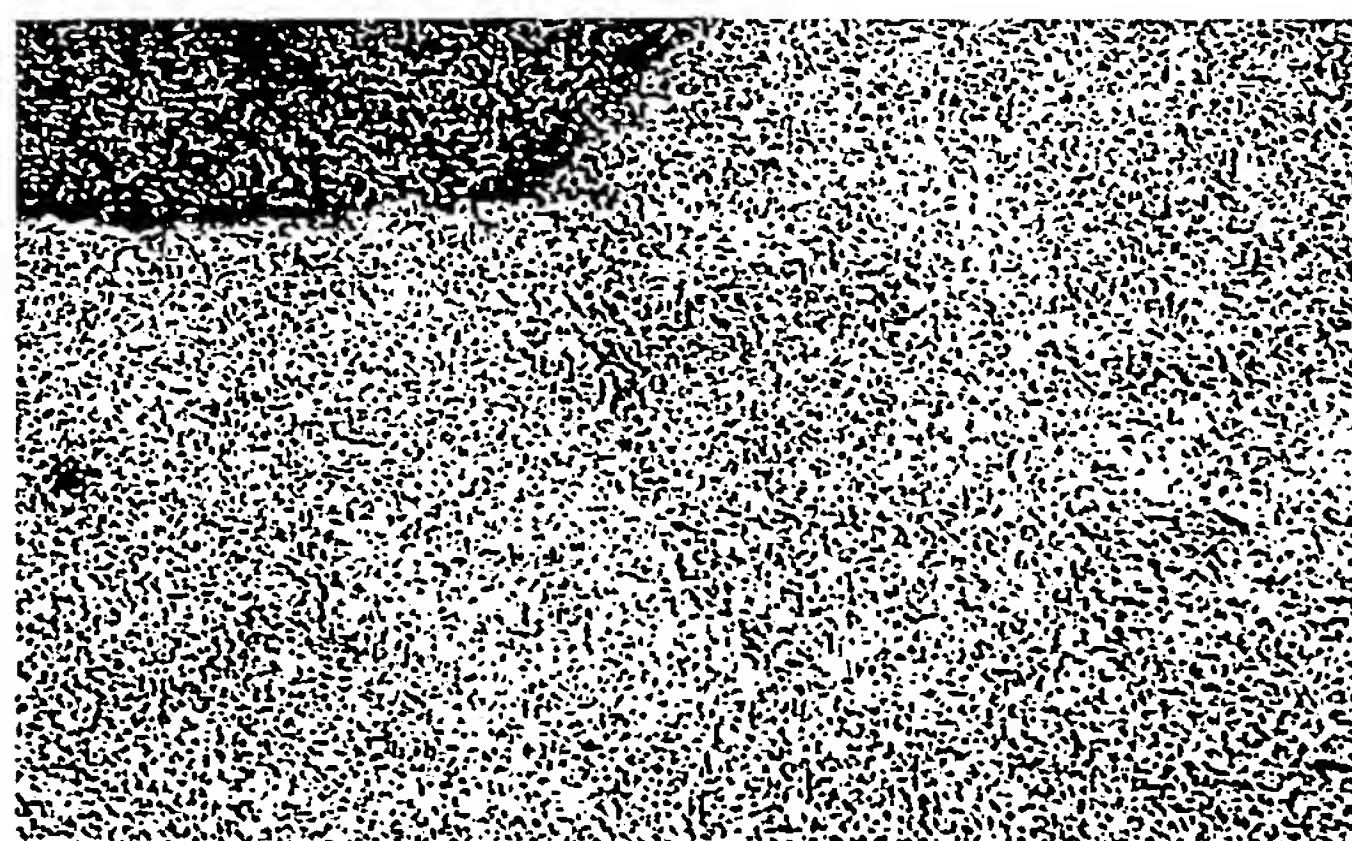


図 7



図 8



4 / 4

図 9

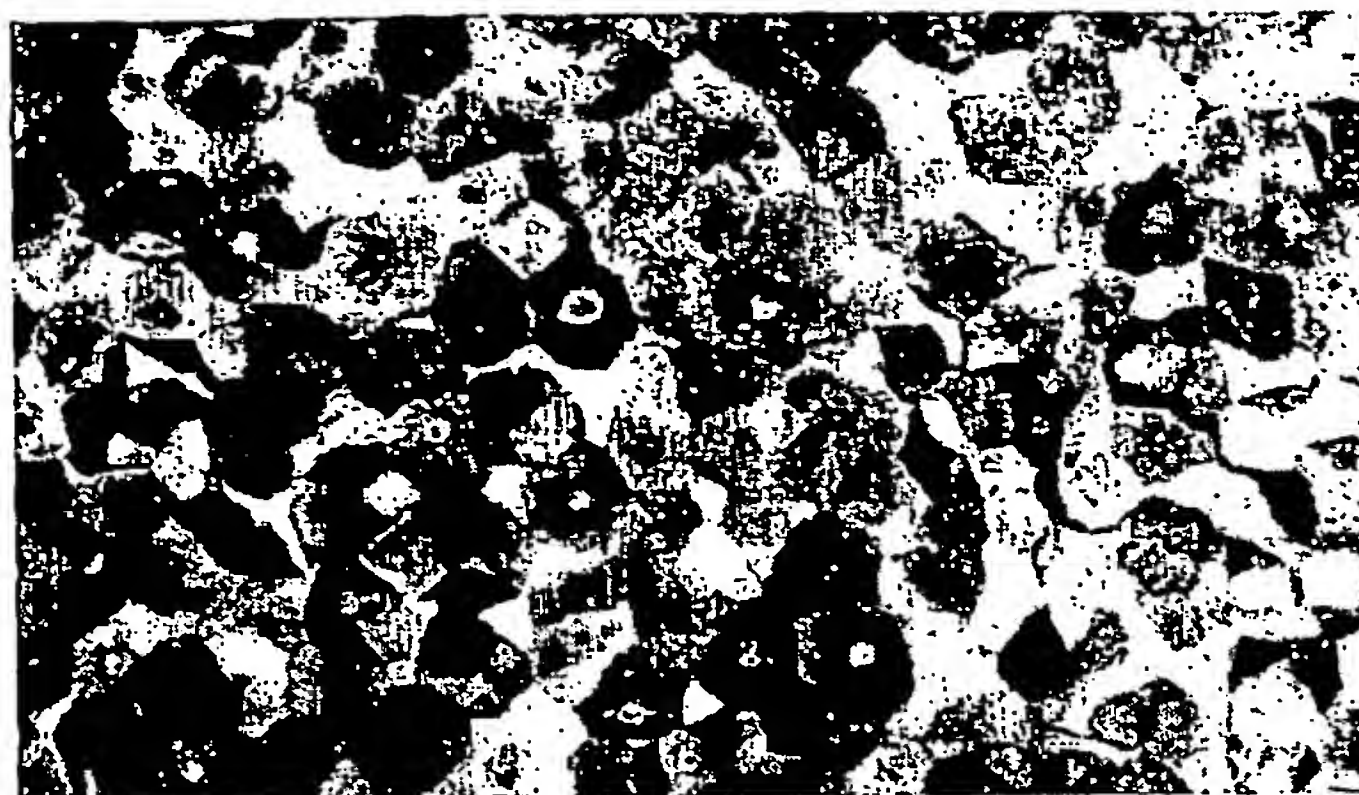
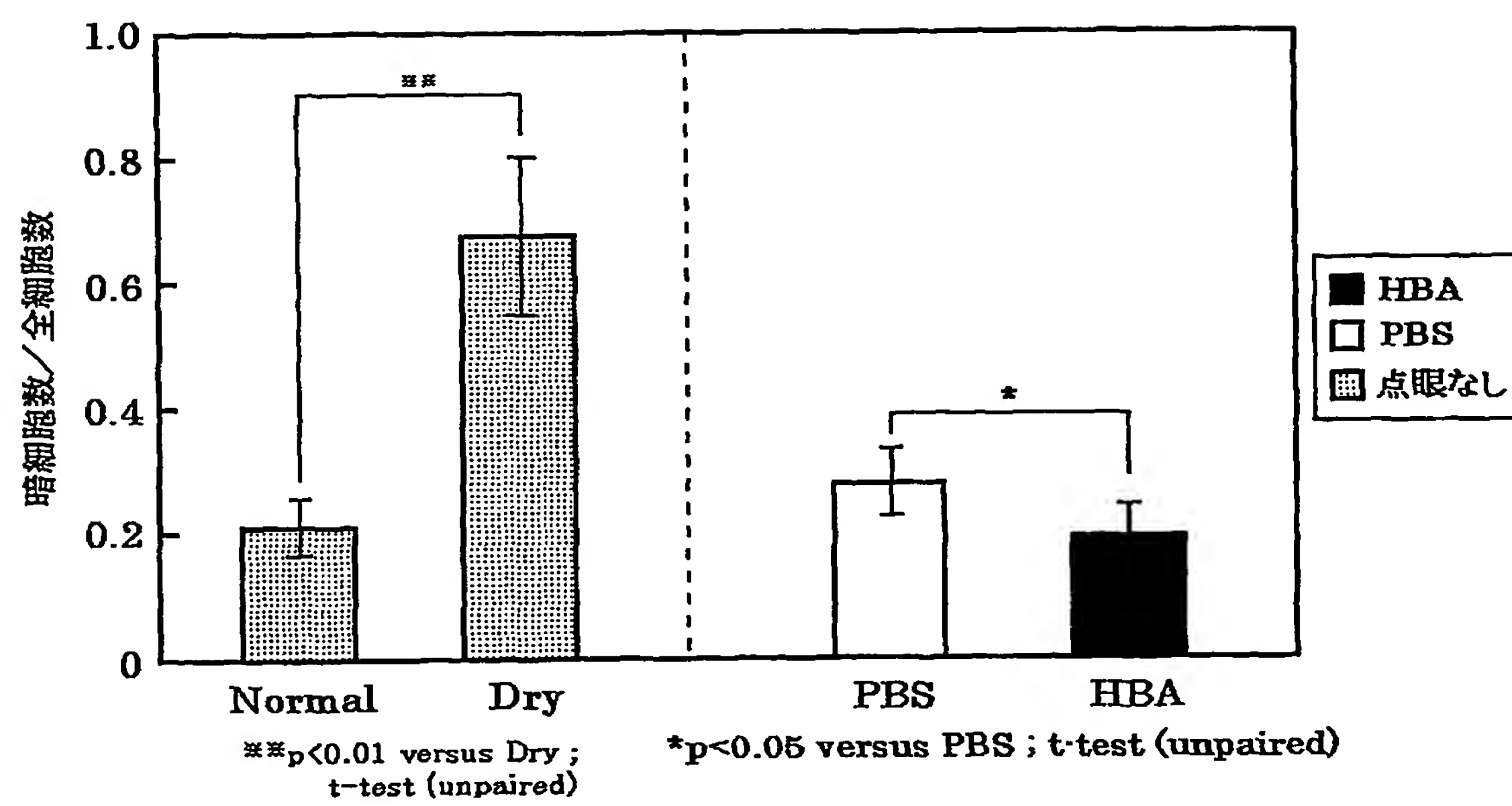


図 10



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014774

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/19, 9/06, 9/08, A61P27/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/19, 9/06, 9/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY/CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTplus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 10-265378 A (Ophtecs Corp.), 06 October, 1998 (06.10.98), Claims (Family: none)	1-11
Y	Hitoshi WATANABE, "Mucin-so no Shogai to Sono Chiryo", The Journal of the Eye, 1997, Vol.14, No.11, pages 1647 to 1653	1-11
Y	Ikuko TODA et al., "Dry Eye no Shindan", The Journal of the Eye, 1991, Vol.8, No.7, pages 1021 to 1027	1-11
Y	Satoshi SUZUKI et al., "Dry Eye ni Okeru Ketsu maku Johi Shogai no Kento", Nichigankaishi, 1997, Vol.101, No.1, pages 52 to 56	1-11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
08 November, 2004 (08.11.04)Date of mailing of the international search report
30 November, 2004 (30.11.04)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014774

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Tsutomu INATOMI, "Dry Eye ni Okeru Namidaeki to Kakumaku Johi tonu Kakawari", Journal of Japan Contact Lens Society, 1999, Vol.41, No.4, pages S7-S13	1-11
Y	Murato Doru, "Ocular Surface no Shogai o Care Suru!", The Japanese journal of ophthalmic caring, 01 May, 2003 (01.05.03), Vol.5, No.5, pages 406 to 410	1-11
Y	ZHANG, Y.L. et al., Analysis of tear film rupture: effect of non-Newtonian rheology, Journal of Colloid and Interface Science, 01 June, 2003 (01.06.03), Vol.262, No.1, pages 130 to 148	1-11
A	WO 01/51065 A1 (Ophtecs Corp.), 19 July, 2001 (19.07.01), Full text (Family: none)	1-11
A	US 5116868 A (The Johns Hopkins University), 26 May, 1992 (26.05.92), Full text (Family: none)	1-11
A	JP 2001-89366 A (Ophtecs Corp.), 03 April, 2001 (03.04.01), Full text (Family: none)	1-11
P,X	JP 2003-313124 A (Ophtecs Corp.), 06 November, 2003 (06.11.03), Full text (Family: none)	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014774

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 12-14

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 12 to 14 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/19, 9/06, 9/08, A61P27/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/19, 9/06, 9/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY/CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTplus (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P 10-265378 A (株式会社オフテクス) 1998. 10. 06, 【特許請求の範囲】 (ファミリーなし)	1-11
Y	渡辺 仁, ムチン層の障害とその治療, あたらしい眼科, 1997, Vol. 14, No. 11, pp. 1647-1653	1-11
Y	戸田 郁子 他, ドライアイの診断, あたらしい眼科, 1991, Vol. 8, No. 7, pp. 1021-1027	1-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08.11.2004

国際調査報告の発送日

30.11.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

伊藤 幸司

4 C

3 1 2 7

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	鈴木 智 他, ドライアイにおける結膜上皮障害の検討, 日眼会誌, 1997, Vol. 101, No. 1, pp. 52-56	1-11
Y	稲富 勉, ドライアイにおける涙液と角膜上皮とのかかわり, 日本コンタクトレンズ学会誌, 1999, Vol. 41, No. 4, pp. S7-S13	1-11
Y	ムラト ドール, オキュラーサフェスの障害をケアする!, 眼科ケア, 2003.05.01, Vol. 5, No. 5, pp. 406-410	1-11
Y	ZHANG, Y. L. et al , Analysis of tear film rupture: effect of non-Newtonian rheology, Journal of Colloid and Interface Science, 2003.06.01, Vol. 262, No. 1, pp. 130-148	1-11
A	WO 01/51065 A1 (株式会社オフテクス) 2001. 07. 19, 全文 (ファミリーなし)	1-11
A	US 5,116,868 A (The Johns Hopkins University) 1992. 05. 26, 全文 (ファミリーなし)	1-11
A	J P 2001-89366 A (株式会社オフテクス) 2001. 04. 03, 全文 (ファミリーなし)	1-11
PX	J P 2003-313124 A (株式会社オフテクス) 2003. 11. 06, 全文 (ファミリーなし)	1-11

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 12-14 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲12-14は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。